

A kukorica golyvás üszöggombája, *Ustilago maydis* légzésének vizsgálata

SZENDE KÁLMÁN

Magyar Tudományos Akadémia Genetikai Intézete, Budapest

A kukorica golyvás üszöggombája, *Ustilago maydis* (DC) Cda. kutatásának célja eddig elsősorban szexualitásának és öröklésmenetének megismerése volt. Kevés figyelmet fordítottak anyagszerjének ismeretére és csak az utóbbi évekből van néhány adat, mely táplálkozási viszonyairól [11, 12, 13], valamint szénhidrát és aminosav anyagszer viszonyairól [3] ad felvilágosítást. Dolgozatunk a gomba respirációjának vizsgálatából kapott eredményeket és az azokból levonható következtetéseket ismerteti.

A vizsgálatok anyaga és módszere

Kernkamp [5] vizsgálatai alapján a gomba egyes sejtjeinek alakja az ún. sporidiumos típustól a micéliumosig változhat. Előbbi méreteiben változó, de a gombára jellemző alakú sejtekből áll, a micéliumos típus hosszú, megnyúlt filamentumok szövedéke. Az ún. köztes alakú sejtek a sporidiumokon kívül nagy számban tartalmaznak gátoltan osztódó, szabálytalan alakú, több sejtből álló, elágazó és megnyúlt alakokat. A sporidiumos típus stabil, környezeti hatásokra nem alakul át más típusokba, a micéliumos típus már változékonnyabb, a köztes típus külső környezeti hatásokkal mindkét irányba eltolható.

Dimorf patogén gombákban így *Blastomyces* fajokban, valamint baktériumok között, *B. cereus*-nál Nickerson [7 és 8] talált végoxidálási különbségeket és ezzel igyekezett a sejtek osztódásában mutatkozó különbségeket magyarázni. Ezért indokoltnak látszott vizsgálatainkban ezekre a vonatkozásokra is figyelemmel lenni, tekintettel arra, hogy ezek a morfológiai különbségek gombánknál ugyancsak adódtak.

A vizsgálatokban felhasznált üszöggomba különböző helyekről származó T3S, K7R és MYC jelzésű származék volt, melyek közül az első sporidiumos, második köztes, utolsó pedig micéliumos típusú volt.

A vizsgálatokhoz szükséges sejteket a következő sókat tartalmazó táptalajon neveltük: NH_4Cl 5 gm, NH_4NO_3 1 gm, Na_2SO_4 2 gm, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,1 gm, CaCl_2 +, KH_2PO_4 1 gm, K_2HPO_4 3 gm; glukóz 5 gm, és deszt. víz 1000 ml. Szilárd táptalajnál 2%-os agart használtunk. A tápoldat pH-ja 6,8–6,9 volt.

48 órás törzstenyésztéssel folyékony tápoldatba inokuláltunk és ebben 24 órán át növekedtek a sejtek egy forgó mikrofermentorban [12]. A kémcsövekből 300 ml lombikokba oltottunk, lombikonként 50 ml tápoldatba. Az így beoltott lombikokat 24 óráig horizontális rázón ráztuk, percenként 120–160 körforgással 30 C fokon. 24 óra után a sejteket sterilen centrifugáltuk, kevés fiziológiai sóoldatban szuszpendáltuk és ismét ráztuk 4–5 órán át, hogy ezzel az eléggé magas endogén légzést csökkentjük, mely erősen fedte a szubsztrát légzésének értékeit. Az így kiéheztetett sejtek légzése eléggé csökkent, az első három órában ez a csökkenés rohamos, majd gyengébb és egyenletes. Ennek alapján választottuk az 5 óra körüli éheztetést, amikor már a légzés harmadával csökkent. Az így kiéheztetett sejteket ezután ismét centrifugáltuk, éjszakán át 0–5 fokon tartva, másnap pufferrel mostuk és sűrű szuszpenziót készítve hígítottuk. Ebből a sejtsuszpenzióból 0,5 ml-t adtunk a Warburg edényekbe és 2 ml-ből történt a nitrogén meghatározás Kjeldahl módszerrel. A Warburg »direkt« módszere [14] szerint végzett vizsgálatokban $1/15$ M foszfát puffert használtunk. A vizsgálatok részletes adatait a kísérleti rész megfelelő helyén adjuk meg.

Kísérleti rész

Endogén O_2 felvétel. A vizsgálatok különböző időpontjában, négy kísérlet eredményeinek középértékeit az 1. A ábra ábrázolja. Az endogén légzés elég magas és az ábrázolt két származék megközelítőleg azonos $\text{Q}_{\text{O}_2}(\text{N})$ -vel jellemezhető, míg a micéliumos típus az egyes kísérletek között erős szóródást mutat.

Az endogén légzés RQ értékeit vizsgálva (1. táblázat) nem mutatkozik lényegesebb különbség az egyes izolátumok között.

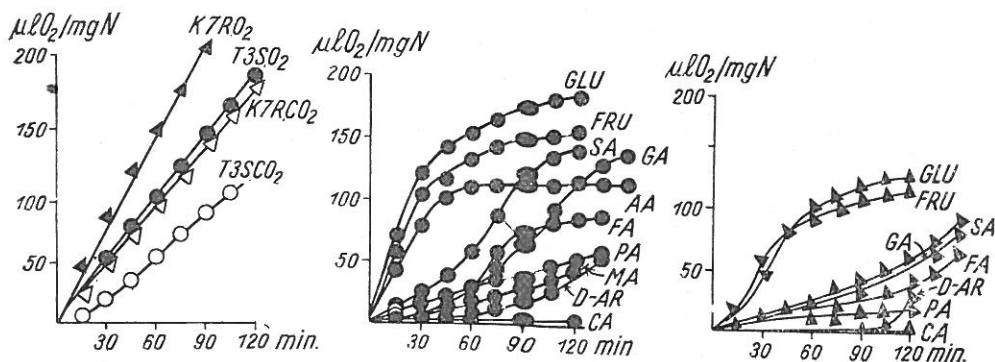
Szubsztrát légzés. Glukóz adására a légzés ugrásszerűen fokozódik, majd a glukóz fogyasztásával fokozatosan csökken. A 10 mikromol [14] glukóz,

1. táblázat
U. maydis három származéka endogén légzése

Származék	Q _{O₂} (N)	Q _{CO₂} (N)	RQ
T3S	102	53	0,52
K7R	156	100	0,64
MYC	265	157	0,59

hozzáadását követő órában már jelentős mértékben ellégződik. Itt a légzési hányados értékében (RQ) már jelentkeznek különbségek (2. táblázat). Glukózt legerélyesebben a sporidiusos T3S respirálja az RQ kb. 1,0. A másik két származék oxigén fogyasztása alacsonyabb,

RQ értéke azonban magasabb. A micéliumos származék szóródása általában itt is erőteljes a különböző időben végzett kísérletek között.



1. ábra.

A) T3S és K7R O₂ felvétele és CO₂ leadása. Az edények 2,2 ml folyadékot tartalmaztak: 1 ml puffer pH 6,9, 0,5 ml sejtszuszpenzió, oldaledényben 0,5 ml puffer, közepedény 0,2 ml 10% KOH. Gázfázis: levegő, hőmérséklet 30 °C. CO₂ leadás mérésénél KOH helyett H₂O a közepedényben.

Az értékek a szuszpenzió nitrogén mennyiségére vannak vonatkoztatva

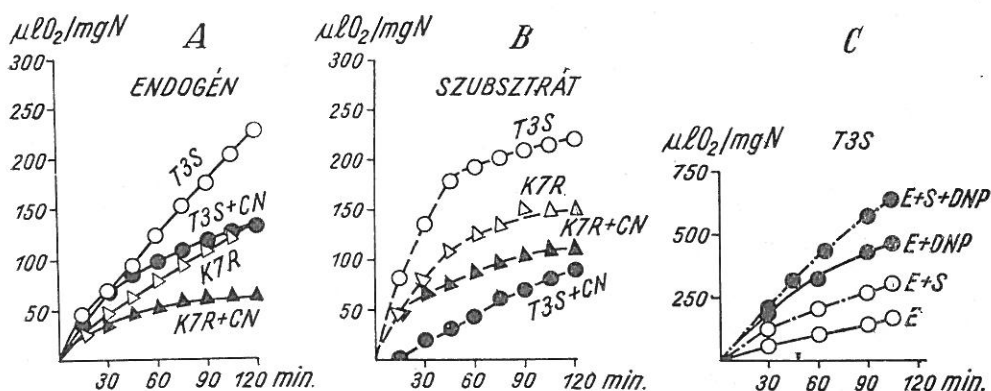
B) és C) T3S és K7R izolátumok O₂ felvétele különböző szubsztrátok hatására. Összes folyadék térfogat 2,2 ml. Szubsztrát 0,02 M oldatából 0,5 ml (10 mikromol) az oldaledényből a kísérlet kezdetén lett a közepedénybe öntve. pH: savaknál 4,8, egyébként 6,9 volt. Rövidítések: SA — borostyánkősav, GA — α-ketoglutársav, AA — ecetsav, FS — fűmársav, PA — piroszólósav, MA — almasav, CA — citromsav, glu — glukóz, fru — fruktóz, d-ar — arabinóz. A kapott értékeket az endogén légzés levonásával nyertük

2. táblázat
U. maydis három származéka glukóz légzése

Származék	1. óra			2. óra		
	Q _{O₂} (N)	Q _{CO₂} (N)	RQ	Q _{O₂} (N)	Q _{CO₂} (N)	RQ
T3S	156	160	1,02	37	35	0,95
K7R	100	159	1,59	27	52	1,92
MYC	50	119	2,00	—	—	—

A továbbiakban a glukóz leépülése köztes termékeinek hatását vizsgáltuk (1. ábra B és C). A glukóz és fruktóz erősen, a d-arabinóz kisebb mértékben, a Na-glukonát visztat nem respirálódik (T3S gyengén hasznosítja). A Krebs—Szent Györgyi ciklus tagjai közül citrom-, piroszóló-, α -ketoglutar-, borostyánkő-, alma-, ecetsav valamint Na-acetát légzést vizsgáltuk. Az acetátot már kezdetben hevesen respirálja a gomba, a többit lassabban és a kapott görbék alapján feltehetően adaptív módon. Citromsavat a vizsgálat időtartama alatt nem oxidálta az almasavat csak a sporidiumos típus. Az eredmények szerint legerőteljesebben a sporidiumos T3S respirál, a köztes jellegű K7R $QO_2(N)$ értékei ennél kisebbek, a micéliumos származék ismét szélsőséges ingadozásokat mutatott.

A savak hatását két pH-nál: 4,9 és 6,9 vizsgáltuk. Az alacsonyabb pH fokozta a savak hatását, feltehetően a savak alacsonyabb disszociációja következtében, azonban az ecetsav és piroszólósav hatása a két pH-nál megközelítőleg azonos volt.



2. ábra.

A) és B) Hidrogénianid hatása T3S és K7R endogén és szubsztát légzésére. CN konc 10^{-4} M. Középedényben KCN-KOH mixtura. Szubsztátat glukóz 0,5 ml 0,02 M oldathól. A szubsztátat légzés adatait az endogén légzés értékeinek levonásával nyertük

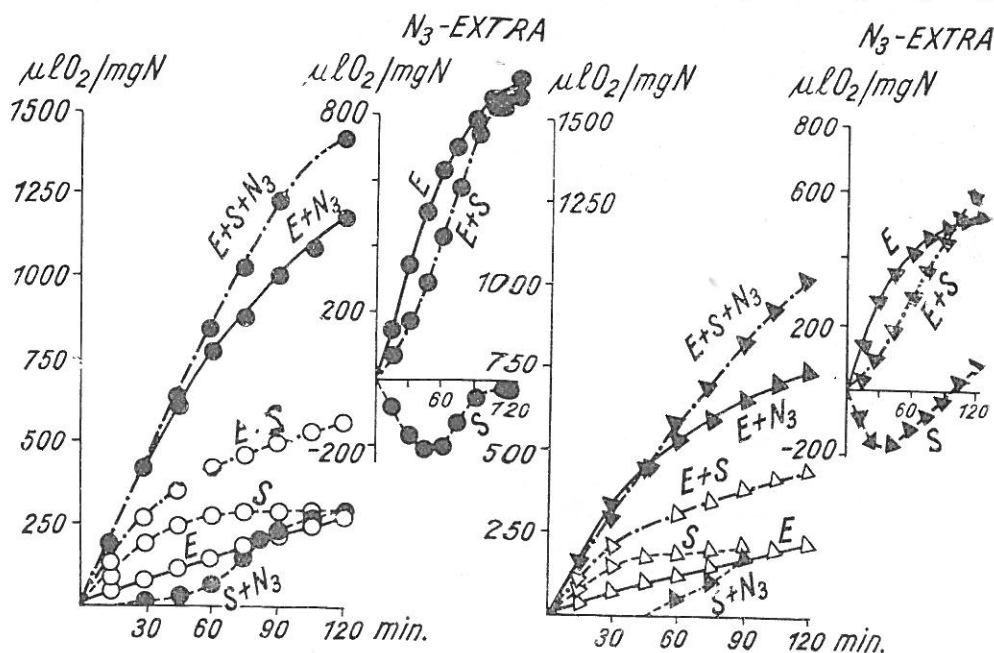
C) 2,4-dinitrofenol hatása a T3S endogén és glukóz légzésére. DNP konc.: 10^{-4} M pH 4,8. Rövidítések: E — endogén értékek, S — szubsztátum respirálásnak értékei. DNP és szubsztátum oldal edényből a kísérlet kezdetén lett a főedénybe adva

A hidrogénianid (CN) koncentráció stabilizálására [9] a manométer edény közép edényében KCN-KOH keveréket alkalmaztunk és így a CN abszorpciója az alkáliban kiküszöbölhető volt. A CN-t $0,0-4,6 \times 10^{-4}$ M koncentrációban alkalmaztuk a gomba endogén és glukóz respirációjának gátlására. A gátló hatás már 1×10^{-4} M koncentrációnál jelentkezik mind az endogén, mind a szubsztátat légzésénél. A $2,2 \times 10^{-4}$ M és $4,6 \times 10^{-4}$ M koncentrációjú CN gátló hatása rendkívül erős. Viszont az 1×10^{-5} és $2,2 \times 10^{-5}$ M CN koncentráció határozottan serkentő hatású mind az endogén mind a szubsztátat légzésre. Az 1×10^{-4} M CN hatását a 2. ábra A és B ábrázolja. Ha a kifejtett gátló hatást százalékban fejezzük ki, úgy az endogén légzés gátlása a mérleg hozzáadása után egy órával a sporidiumos típusnál 21%, a köztes alaknál 32%; a szubsztátat légzését ugyan csak egy óra után 77, illetőleg 59 százalékkal gátolta.

A 2,4-dinitrofenolt (DNP) két koncentrációban alkalmaztuk 4,8 és 6,9 pH-nál (2. ábra C). A nagyobb, 1×10^{-4} M koncentrációban alkalmazott DNP pH 4,8-nál mind a két izolátum endogén légzését lényegesen gyorsítja. Ez a serkentés a sporidiumos típusnál a 105 percen 1,82-szer, a köztes típusnál 3,26-szor nagyobb, mint DNP távollétében. 6,9-es pH és kisebb DNP koncentráció (10^{-5} M) mellett

a serkentő hatás kisebb. A glukóz respirálásánál a 10^{-4} M koncentrációjú DNP kezdetben gátolja a lélegzést a kontrollhoz viszonyítva. A gátlás a sporidiosus típusnál jellegzetesebb, de eléggé feltűnő a köztes izolátumnál is.

A Na-azidot (N_3) hasonlóan a DNP-hez, a szubsztráttal egyidőben adtuk a sejtekhez (3. ábra). A T3S és K7R származékokban N_3 hatására az endogén légzés mintegy ötszörösére gyorsul, ezzel szemben a szubsztrát légzésének görbéje egy



3. ábra.

Azid (N_3) hatása a T3S és K7R endogén és glukóz légzésre. pH 7,0. N_3 konc.: 3×10^{-3} M. Glukóz konc.: mint előbbiekben. N_3 és szubsztrát egy időben a kísérlet kezdetén az oldaledényből lett a főedénybe adva. Rövidítések: mint 2/C ábra

ideig követi az endogén légzés görbét és csak a 60–90 percben jelzi az értékesülést. A netto értékesülés görbéje kezdetben ellaposodást mutat. Az N_3 okozta többlet endogén légzés görbéje szubsztrát hozzáadására csökken. N_3 hatására beálló többlet légzés görbéje a szubsztrátnál negatív értékeket mutat és csak 30 perc után kezd emelkedni. A két sejt típus között lényegesebb különbség nem mutatkozik, a micéliumos típus ez esetben is szélsőségesen viselkedett.

Fejtegetések az eredményekkel kapcsolatban

Jelen vizsgálatok a kukorica golyvás üszöggombája néhány anyagesere állandójára igyekeztek fényt vetíteni. A kísérleteket a gomba vegetatíván szaporodó sporidiosus alakjával végeztük, mely életsiklusában a haploid fázist képviseli. Ez a gomba azon alakja, mely *in vitro* jól fejlődik, szemben a sporidiumok fúziójakor kapott dikariotikus micéliummal, mely obligát parazita életmódot folytat. A sporidiosus életsiklus sejtjei azonban korántsem mutatnak azonos morfológiai képet, mint már azt Kernkamp [5] is kimutatta, hanem a szabálytalan sejt alakuláson és filamentum képzésen keresztül számos morfológiai típus különböztethető meg. Ezekből emeltünk ki három extrém sejt típusú származékot és kísérletet tettünk arra nézve, vajon ezek mutatnak-e légzésükben alapvető, kvalitatív különbségeket.

A gomba erőteljes endogén légzést mutat. Még 16 óra után is, szubsztrátmentes közegben, erősen oxidatív körülmények között tartva jelentős mértékben oxidálja endogén készletét. A mosott sejtek $Q_{O_2}(N)$ -je 100–160 között variál a légzés leggyorsabb szakaszát véve figyelembe. A $Q_{CO_2}(N)$ 50–100 között változik, ezeket az adatokat a sejtek előkezelése, kora és egyéb fiziológiai körülmények is erősen befolyásolják.

Glukózon nevelt sejtek a glukózt jól értékesítik és 150 körüli $Q_{O_2}(N)$ -vel respirálják. A köztes K7R származék alacsonyabb légzési gyorsaságot mutatott. A glukóz légzése az első 30 percben a legintenzívebb, a második órában már az első óra értékeinek $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{5}$ -re eszikken, ami a szubsztrát gyors hasznosulására mutat.

Hasonló a helyzet a $Q_{CO_2}(N)$ -nél is. A glukóz légzés RQ értékei azok, amelyek némi lehetőséget adnak arra, hogy analógiát találjunk Nickerson eredményei és a jelen vizsgálatok között: a filamentum képzésre való hajlam fokozódásával a glukóz légzése eszikken és az RQ értékek megnövekednek, amint azt Nickerson is megállapította más mikroorganizmusoknál. U. maydis-nál kapott eredmények azonban nem oly élesen különbözök, mint e szerző adatai. A micéliumos származék légzése szélsőséges ingadozásokat mutatott. Ezek az ingadozások összefüggésben lehetnek a kultúra populációjában eddig ismeretlen okok következtében történt eltérésekkel. A filamentumos alakok elszaporodása következtében a respiráció lusta volt, adott szubsztrát és mérgek nem befolyásolták észrevehetően, viszont szélsőségesen erőteljes légzés volt jellemző a sporidiumos típus elszaporodására a kultúrában és az adott anyagokra is erőteljesebben reagált.

A glukóz metabolizmus lépülése köztesecinek jelentős részét értékesíti a gomba. Természetesen változó légzési paramétereket kaptunk az egyes köztes anyagok hatására. Rendkívül gyors kezdeti légzési sebességet adtak a glukóz, fruktóz és ecetsav. A vizsgált többi szervessav, pentóz már jóval kisebb mértékben respirálódott. A köztes savak értékesülése alacsonyabb pH értékeknél fokozódott, ami permeálási akadályokra utal.

A gyengébben értékesülő köztes savak egy adaptív jellegű, kezdeti ellaposodást mutató görbét adnak. A légzési görbének e szigmoid jellege valóban adaptálódási folyamatra vezethető-e vissza, vagy pedig a szubsztrátumnak permeálási okokból következő kezdeti gátolt értékesüléséből következett, az a vizsgálati adatokból nem tűnik ki. A citromsavat nem respirálja a gomba, ez egybevág a növekedési vizsgálatok eredményével [12]. Ezzel szemben az erőteljesen respiráló sporidiumos típus az almasavat és glukonátot gyengén bár, de értékesíti.

A terminális oxidálás három mérget (CN, DNP és N_3) alkalmaztuk a gomba endogén és szubsztrát légzésének befolyásolására. CN azzal gátol elsősorban, hogy komplex képzése közben inaktívál, főleg vasat tartalmazó enzimeket, így elsősorban a citokróm rendszert. Alacsony koncentrációban (10^{-4} M) adva jelentékenyen gátolja a szervezet endogén és glukóz légzését. Ez a citokróm rendszer szerepére enged következtetni, mely jelentős mértékben részt vesz a gomba respirációjában. A CN koncentrációt $4,6 \times 10^{-4}$ M-ig fokozva a légzés még működik, ez további légzési rendszerek (flavoprotein oxidázok?) működésére utal, melyek CN rezisztensek. Ezzel szemben a CN koncentráció csökkentésekor, $2,2 \times 10^{-5}$ M-nél a légzés serkentése figyelhető meg, ami nem fémmel kapcsolódott enzimrendszerek serkentéséből adódhat [4].

Érdekes betekintést nyújt a gomba endogén és glukóz légzésébe, valamint asszimilációs folyamataiba a másik két mérgek DNP és N_3 -nak alkalmazása. DNP és N_3 gátolják a sejtanyagcsere asszimilációs folyamatait [2] feltehetően azzal, hogy interferálva a foszfor anyagcseréjével energiadús foszfátok képzését akadályozzák. Ezzel szemben azzal, hogy az asszimilációs tevékenységet gátolják,

bekövetkezhet az endogén v. exogén szubsztrát teljes leépülése és így a légzés erősen fokozódik. Valóban mind DNP, mind N_3 adására a gomba endogén légzése megnövekedik. Más azonban a szubsztrát légzésének a képe. Itt határozott gátlás mutatkozik a mérgek hatására. Ez a gátlás más mikroszervezeteknél is kimutatható volt [1]. Az azidos illetőleg DNP-os többlet légzés a szubsztrát adására csökken. Ez a csökkenés az alkalmazott koncentrációban valószínűleg abból következik, hogy a drog a szintézises folyamatot nem gátolta teljes mértékben. Minthogy a respiráció serkentése és az asszimilációs folyamatok gátlása között ellentétes irányú összefüggés van, mely függ a koncentrációtól, amint ezt DNP esetében megállapították [10] az adott mérgek koncentrációkban a glukóz hatására a többlet endogén légzésben bekövetkező csökkenés feltehetően a meginduló szintézises folyamatok számlájára írható.

Felvetődhet az a kérdés, hogy a drog jelenlétében kapott endogén légzés értékei levonhatók-e a bruttó légzési adatokból, hogy ezáltal a szubsztrát hatására bekövetkező légzés vizsgálható legyen? Ezt elvégezve egy erősen szigmoid jellegű görbét kapunk, mely adaptív, illetőleg szintézises folyamatokra utal, ezeknek jelenlétét pedig éppen az alkalmazott drogok kizárják. Adatok vannak arra nézve, hogy az N_3 és DNP okozta endogén többlet légzést a glukóz addíciója erősen csökkenti *Zygorrhynchus* és *Saccharomyces* esetében [6]. Elképzelhető jelen esetben az endogén légzés sebességének csökkenése és nem szabad elhanyagolni ennek lehetőségét, mert ebből adódhat a szubsztrát értékesülésének szigmoid görbére jellemző kezdeti lag-fázisa. Drog hiányában ez nem jelentkezik, tehát itt az endogén légzés feltehetően nem szorul vissza.

Köszönetemet szeretném kifejezni dr. Gyórfy Barnának irányításáért és támogatásáért a vizsgálatok folyamán, valamint Bíró Klárának a vizsgálatok kivitelében segítségéért. Ugyanesak köszönet illeti Buzsáki Józsefnek a nitrogén meghatározásokban nyújtott segítségéért.

Összefoglalás

A kukorica golyvás üszöggombájának, *U. maydis* (DC) Cda. néhány morfológiaiag különböző származéka légzési viszonyainak vizsgálata alapján megállapítható volt:

1. az endogén légzés sebessége kezdeti gyors szakasza után eleinte hirtelen majd 4. órától kezdve egyenletesen csökkenő irányzatú, azonban a 16. órában is még elég magas,

2. az endogén $Q_{O_2}(N)$ és $Q_{CO_2}(N)$ 100–160, illetőleg 50–100 között változik a származékoktól és feltehetően az előneveléstől függően. Az RQ 0,50–0,60 közötti értékeket mutat az izolátumtól függően,

3. adott szubsztrátum hatására glukóz, fruktóz, acetát jól a többi kisebb mértékben, vagy nem fokozta az endogén légzést,

4. az egyes, morfológiai jellegben különböző származékok légzése között csak kvantitatív jellegű különbségek adódtak,

5. CN hatására, koncentrációjától függően serkentés illetőleg gátlás jelentkezett, 10^{-4} M CN jelentős mértékben, de nem teljesen gátolta a szervezet endogén és glukóz légzését,

6. N_3 és DNP az endogén légzést erősen fokozta, míg a szubsztrát légzését gátolta. A kapott görbék alapján néhány következtetést vontunk le a gomba légzése és asszimilációja között fennálló viszony, valamint az alkalmazott drogok és szubsztrát jelenlétében az endogén légzés csökkenésével kapcsolatban.

Érkezett: 1955. november 6.

Irodalom

- [1] Allen, P. J.: Amer. J. Bot., **35**, 798. 1948.
- [2] Clifton, C. E.: Adv. Enzym., **6**, 269. 1946.
- [3] De Vay, J. E., Rowell, J. B. & Stakman, C.: Phytopathology, **42**, 6. 1952.
- [4] James, W. O.: Ann. Rev. Plant Physiol., **4**, 59. 1953.
- [5] Kernkamp, M. F.: Phytopathology, **29**, 473. 1939.
- [6] Moses, V. & Syrett, P. J.: J. Bacteriology, **70**, 201. 1955.
- [7] Nickerson, W. J. & Edwards, G. A.: J. Gen. Physiol., **33**, 41. 1949.
- [8] Nickerson, W. J. & Sherman, F. G.: J. Bacteriology, **64**, 667. 1952.
- [9] Robbie, W. A.: J. Cell. Comp. Physiol., **27**, 181. 1946.
- [10] Simon, E. W.: J. exp. Botany, **4**, 377. 1953.
- [11] Schopfer, W. H. & Blumer, S.: C. R. Ac. Sci. Paris, **206**, 1141. 1938.
- [12] Szende, K.: Agrokémia és Talajtan, **2**, 223. 1953.
- [13] Wolf, F. T.: Mycologia, **45**, 516. 1953.
- [14] Umbreit, W. W., Burris, R. H. & Stauffer, J. F.: Manometric techniques and tissue metabolism. Minneapolis 1951. Burgess Publishing Co.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ДЫХАНИЯ ПУЗЫРЧАТОЙ ГОЛОВНИ КУКУРУЗЫ

(Ustilago maydis)

Сенде К.

Институт Генетики Академии Наук Венгрии, Будапешт

Резюме

Результаты изложенные в статье связаны с изучением дыхания пузырчатой головни (Ustilago maydis). Гаплоидная форма споридии грибка хорошо растет в синтетической культурной среде при наличии источнике органического угля. Морфологический характер гриба не однообразный а показывает большое разнообразие между споридийными и мицелийными типами (Kernkamp) 1939 г. Мы включили в исследование три экстремных типа: один споридийный (T3S), один мицелийный (MIC) и один промежуточный тип (K7R) и изучали возможную связь между дыханием и морфологическими типами.

Так-как клетки, воспитанные в течение 24-х часов на глюкозе показали высокое эндогенное дыхание, их заставили голодать в физиологическом соляном растворе при взбалтывании в течение 5-ти часов. В таблице 1 и на рисунке 1 А приведены данные по эндогенному $QO_2(N)$, $QCO_2(N)$ и QR. Физиологические условия (возраст, предварительная обработка и т. д.) повлияли на дыхание.

Прибавление глюкозы сильно повышает дыхание клеток T3S, но K7R показывают уже более низкое дыхание субстрата. Мицелийный тип имеет инертное дыхание, но иногда неизвестные внешние факторы приближают мицелийную популяцию к споридийному типу, в этом случае дыхательная деятельность становится интенсивнее, иногда превышает даже споридийный тип. Эти данные могут сравниться с результатами Nickerson (1949–1952), но как видно существенной разницы между отдельными типами не наблюдается (2 таблица).

При добавлении промежуточных продуктов окислации глюкозы скорость дыхания при использовании глюкозы, фруктозы и уксусной кислоты (AA) высокое, скорость дыхания других при использовании кислот кетоглутарной (α -kGA) янтарной (SA), яблочной (MA), пировиноградной (PA), фумарной (FA), а также d-арабиноза, глюконата, — меньше, лимонная кислота (CA) не подвергается окислению. При низкой величине pH кислоты лучше используются в дыхании (рис. 1-B и C.). Вычитал из величин дыхания промежуточных менее окисляемых продуктов значение Эндогенного дыхания, можно наблюдать явление фаза лега. Предполагается что этот лег имеет адаптивную природу или трудности в проницаемости и вызвали сигмондную форму кривой поглощения O_2 .

Изучалось влияние некоторых респираторных ядов на дыхание гриба. Гидрогенцианид (CN) при концентрации 10^{-4} М и выше проявляет тормозящее действия (рис. 2. А и В). Предполагается, что он тормозит систему цитокром-цитокром оксидаза. При концентрации $4,6 \times 10^{-4}$ М наблюдается неполное тормозящее действие. Предполагается действие какой-нибудь резистентной системы CN (флавопротеинные оксидазы?). При более низких концентрациях CN стимулирует дыхание.

2,4 динитрофенол (DNP) (при 10^{-4} М, pH 4,8) и азид натрия (N_3 при 3×10^{-3} М, pH 7) стимулируют эндогенное дыхание, вероятно путем выключения оксидационных фосфорилирований. (рис. 2. С и З.). Использование глюкозы при дыхании в присутствии DNP и N_3 затормаживается. Прибавочное дыхание, вызванное N_3 в присутствии глюкозы отсеснется и после

вычитания величины дыхания субстрата и эндогенного дыхания показывает сигмовидную кривую. Из этого можно предположить, что глюкоза при наличии DNP или N_3 снижает скорость эндогенного дыхания, но выявление этого процесса при косвенном методе определения является не полностью удовлетворительным.

Respiratory Activity of the Corn Smut Fungus, *Ustilago maydis*

K. SZENDE

Institute of Genetics of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest (Hungary)

Summary

The results presented in this paper are concerned with the investigation of the respiratory activity of smut fungus, *Ustilago maydis*. The haploid sporidial form of this fungus grows well in synthetic culture medium, with organic carbon sources (Szende 1953). Its morphological characters are not uniform, but have a great variability between the strict sporidial and mycelial types (Kernkamp 1939). Three extreme types were used: i. e., a strict sporidial (T3S), a mycelial (MYC) and an intermedial (K7R) one and the interrelation of the respiratory activity and the morphological characters investigated.

As the washed suspension of 24 hrs glucose grown cells have a high endogenous respiratory activity the cells were starved by shaking in saline for five hours. The endogenous $QO_2(N)$, $QCO_2(N)$ and RQ data are given in table 1., and in Fig. 1. A. Of course the physiological conditions (age, pretreatment, etc.) affect the respiratory activity.

Addition of glucose increases the respiration of the T3S cells in a high degree, but the intermediate K7R ones show a lowered substrate respiration. The mycelial type has a sluggish respiratory activity, however sometimes the mycelial population is shifted to the sporidial type by unknown external factors. In this case the respiratory activity increases, even it is higher than that of the strict sporidial type. The data are comparable with that of Nickerson (1949, 1952) but the differences are not so expressed (Table 2.).

After addition of some intermediates of glucose oxidation the rates of respiration of glucose, fructose and acetic acid (AA) are high, of the other acids: α -keto glutaric- (GA), succinic- (SA), malic- (MA), pyruvic- (PA), and fumaric (FA) acids, d-arabinose, gluconate are slow; citric acid (CA) is not oxidised. The acids are better respired at low pH values (Fig. 1 B and C). When the endogenous data were extracted from the respiration of the slowly oxidable intermediates a lag revealed. It is suggested that this is an adaptive lag, or perhaps a permeability barrier causes the sigmoid curve of oxygen consumption. Some respiratory inhibitors were investigated concerned the respiration of the fungus. Hydrocyanic acid (CN) is inhibitory at 10^{-4} M and higher concentrations (Fig. 2 A and B) supposedly blocking the cytochrom-cytochromoxidase system. As 4.6×10^{-4} M is not completely inhibitory it is presumed that some CN resistant system is functioning (?flavoprotein oxidases). The respiration is stimulated at lower concentrations of CN.

After addition of 2,4-dinitrophenol (DNP, 10^{-4} M, pH 4.8) or Na-azid (N_3 , 3×10^{-3} M, pH 7.0) the rate of endogenous respiration is stimulated probably uncoupling the oxidative phosphorylation (Fig. 2 C and Fig. 3.). The oxidation of glucose in the presence of DNP or N_3 is inhibited. The extra respiration induced by N_3 is suppressed in the presence of glucose and the substrate respiration results when endogenous data are extracted a sigmoid curve. From these it is suggested that the glucose suppresses the rate of the endogenous respiration in the presence of DNP or N_3 , however it is not claimed, that the suppression of the endogenous respiration by substrate may be demonstrated such an indirect way.